植 物 分 类 学 报 39(4):357~371(2001) [创刊50周年纪念特刊]
Acta Phytotaxonomica Sinica [Golden Jubilee issue]

植物多倍体基因组的形成与进化

杨 继
(北京大学生命科学学院 北京 100871)

The formation and evolution of polyploid genomes in plants

YANG Ji
(*College of Life Sciences*, *Peking University*, Beijing 100871)

Abstract Polyploidy is widely acknowledged as a major mechanism of adaptation and speciation in plants. Recent estimates suggest that 70% of all angiosperms have experienced one or more episodes of polyploidization. Interdisciplinary approaches combining phylogenetic and molecular genetic perspectives have enhanced our awareness of the myriad genetic interactions made possible by polyploidy. In this paper, cytological mechanisms of polyploid formation and processes and mechanisms of gene and genome evolution in polyploids are reviewed. In many cases, spontaneous polyploids have cytotypes that appear to have been formed by the union of reduced and unreduced gametes. Recent studies demonstrate that most polyploid species have formed recurrently from different populations of their progenitors. Genes duplicated by polyploidy may retain their original or similar function, undergo diversification in protein function or regulation, or one copy may become silenced through mutational or epigenetic means. Duplicated genes also may interact through inter-locus recombination, gene conversion, or concerted evolution. Extensive and rapid genome restructuring can occur after polyploidization. These include inter-genomic chromosomal exchanges, non-Mendelian genomic evolution in nascent polyploids, inter-genomic invasion, and cytonuclear stabilization. Continued application of molecular genetic approaches to questions of polyploid genome evolution holds promise for producing lasting insight into processes by which novel genotypes are generated and ultimately into how polyploidy facilitates evolution and adaptation.

Key words Polyploid plants; Multiple origins; Genome evolution

摘要 多倍化是植物进化变异的自然现象,也是促进植物发生进化改变的重要力量。在被子植物中,约70%的种类在进化史中曾发生过一次或多次多倍化的过程。目前的研究结果表明,自然界绝大多数多倍体是通过未减数配子的融合而形成的,并且很多多倍体种是通过多次独立的多倍化过程而重复发生的。由多倍化所导致的重复基因在多倍体基因组中可能有三种不同的命运,即:保持原有的功能、基因沉默或分化并执行新的功能。多倍化以后,重复基因组的进化动态则主要表现在染色体重排和“染色体二倍化”、不同基因组之间的相互渗透、以及核-质之间的相互作用等方面。

关键词 多倍体植物; 多元发生; 基因组进化

多倍化是植物进化变异的自然现象,也是促进植物发生进化改变的重要力量。在被子植物中,约70%的种类在进化史中曾发生过一次或多次多倍化的过程(Masterson, 1994)。多倍化的直接效应是导致基因组发生部分或全部的重复,但并非所有经历过多倍化的种类都表现明显的多倍体的细胞遗传学特征,其原因是在多倍化事件之后,常常伴随

2001-04-26 收稿,2001-05-23 收修改稿。
基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(G2000046804);国家自然科学基金项目(39970051)。

有一个广泛的、迅速的二倍化过程(diploidization),即通过DNA排除(DNA elimination)、DNA同质化(DNA homogenization)、基因沉默(gene silencing)和染色体重排(chromosomal rearrangement)等过程对多倍体基因组进行改组或重建(genome restructuring),在改变二倍体祖先基因组中基因连锁关系、遗传或外遗传(epigenetic)修饰式样以及染色体结构的同时,赋予多倍体基因组新的细胞遗传学特性,使之在核型特征以及基因表达水平和式样等方面表现与二倍体相似的特点。很多古多倍体(如玉米 *Zea mays*)就是早期多倍化事件的产物,比较作图(comparative mapping)的结果已经证实了这一点(Leitch & Bennett, 1997)。新一轮的多倍化过程可以在这种二倍化的多倍体基因组中再次发生,并伴随新一轮的二倍化和进化趋异,这种重复(多倍化)和趋异的循环或许代表了多数被子植物基因组的进化历史(Wendel,2000)。

从目前积累的资料看,早期有关植物多倍体的研究多集中在多倍体的形态特点、细胞学特征、生活习性以及地理分布式样等方面,对多倍体适应性发展的遗传基础、多倍化的分子后果、以及多倍化后多倍体基因组的进化动态涉及不多,这在很大程度上受制于特殊的、有效的研究方法。近10多年来,分子生物学技术和一些先进的细胞遗传学研究方法在植物多倍体研究中的广泛运用,不仅为研究植物多倍体基因组的起源、确定多倍体的性质、了解多倍化的分子和遗传学效应提供了很多有价值的资料,更新了许多传统的认识,而且为从分子遗传学角度研究多倍体基因组中重复基因或重复基因组的进化动态提供了一条有效的途径。

1 植物多倍体基因组的形成

从目前的研究结果看,植物多倍体基因组主要起源于3种不同的途径,即:体细胞染色体加倍(somatic doubling)、未减数配子的融合(union of unreduced gametes)和多精受精(polyspermy)(Ramsey & Schemske, 1998)。

体细胞染色体加倍可以发生在普通薄壁细胞、分生组织细胞、幼胚或合子中,普通薄壁细胞和分生组织体细胞加倍常常导致产生混倍性的嵌合体,而合子或幼胚体细胞加倍则导致产生完全的多倍性孢子体。在二倍体蚕豆 *Vicia faba* 茎的皮层和髓中就存在许多四倍和八倍性的细胞(Coleman,1950);*Primula kewensis* 是最早被描述的四倍体,它起源于 *P. floribunda* 与 *P. verticellata* 杂交所得到的二倍体不育株上一个可育的四倍体枝条,因而是分生组织体细胞加倍的结果(Newton & Pellew, 1929);此外,Dorsey(1936)和Randolph(1932)早在60年前就已经发现将玉米或小麦的幼胚短暂暴露于高温(40℃)下,就能诱导染色体加倍,并形成四倍或八倍性的幼苗。因此,从细胞学机制上看,体细胞染色体加倍是形成多倍体基因组的途径之一,但对不同类群植物中体细胞加倍的自然发生频率、影响因素以及在植物物种形成和进化中的作用,目前还缺乏系统的研究。

多精受精是指在受精时两个以上的精子同时进入卵细胞中,这种现象已在向日葵 *Helianthus annuus* 等很多植物中观察到(Vigfusson,1970),并在兰科植物中发现了由多精受精而导致产生的多倍体(Hagerup,1947)。因此,多精受精无疑也是产生多倍体基因组的的一条途径,但目前普遍认为这不是一条主要的途径(Ramsey & Schemske, 1998)。

Thompson & Lumaret(1992)指出:目前已很明确,自然界绝大多数多倍体是通过未减数

(2n)配子的融合而产生的。这一观点得到了 Ramsey & Schemske(1998)的支持。在减数分裂过程中染色体偶然不减数的现象已在很多植物中观察到(De Haan *et al*.,1992; Tavoletti *et al*.,1991; Mok & Peloquin, 1975; Karpechenko,1927),这可能是源自第一次分裂染色体不减数,也可能是由于第二次分裂只有核分裂而不进行细胞分裂,或者是在第一次分裂后即发生胞质分裂,并不再进行第二次分裂,从而导致产生二倍性的配子。不同植物可以通过不同的途径产生未减数的配子(Werner & Peloquin, 1991; Parrott & Smith, 1984); 不同植物的生物学特性不同,未减数配子的发生频率也不一样,比如,行营养繁殖的多年生植物通常具有较高的未减数配子的发生频率(Maceira *et al*.,1992; Ballington & Galletta,1976), Ramsey & Schemske(1998)认为这可能是由于营养繁殖方式的存在,使对有性生殖的选择压力有所松弛,从而为 2n 配子或其他无功能配子的产生提供了一个宽松的环境,促进了 2n 配子的形成,并因此而影响到多倍体的发生。

除了不同植物所特有的生物学特性以外,杂种性(hybridity)也是影响 2n 配子发生频率的一个重要因素。根据 Ramsey & Schemske(1998)提供的资料,杂种产生未减数配子的几率(27.52%)比非杂种(0.56%)高近 50 倍,很显然,杂种性促进未减数配子的形成。具有生殖障碍的二倍体种间杂交的直接产物一般是不育的,减数分裂不正常,在种间杂种中往往只有二倍性配子才是具功能的配子。在染色体加倍以后,本来不亲和的染色体组(如:A 和 B)就有了自己的同源染色体(A 和 A,B 和 B),因此在减数分裂时所有染色体都能正常配对,形成二价体,并表现正常的功能。由此可见,多倍化对外来染色体的参与所引起的冲击是一种缓冲,本来在生殖上隔离的二倍体种,当未减数的配子具有功能时,就能发生交配,并产生能育的后代,形成双二倍体种(amphidiploid)。在某些情况下,由不同二倍体种杂交并经多倍化形成的杂种四倍体可以与第 3 个二倍体种杂交,产生的三倍体再经加倍就形成了六倍体,其中包含了 3 个二倍体种的染色体组,普通小麦 *Triticum aestivum* (AABBDD)就是一熟知的例子,这一过程称为次生杂种多倍化(secondary hybrid polyploidy)(Hong,1990)。

值得注意的是,自然界 2n 配子的发生频率不仅仅受植物本身生物学特性和遗传因素的控制,在很大程度上也受到外界环境因素的影响,温度、水分和养分的胁迫以及创伤都可能促进 2n 配子的形成。Belling(1925)就发现曼陀罗 *Datura stramonium*、*Uvularia grandiflora* 和 *Strizolobium* 属植物在寒潮过程中 2n 配子的发生频率急剧上升; 而土豆 *Solanum tuberosum* 两种适应不同温度环境的基因型产生 2n 配子的频率相差近两倍(McHale,1983); Grant(1952)发现在贫瘠土壤上生长的 *Gilia* 属植物产生未减数配子的能力比生长在肥沃土壤上的植物高约 900 倍。由此看出,选择压力也是促进未减数配子形成的重要因素。由于恶劣的环境条件促进 2n 配子的形成,因而也促进了多倍体的形成,这可以解释为什么自然界很多多倍体多分布在高纬度、高海拔地带或其他极端环境中。

在被子植物中,同一物种形成未减数配子的过程可以在不同居群中独立地发生,这就意味着一个多倍体种有可能在不同居群中独立地重复发生(recurrent formation),这在很大程度上支持了 Soltis & Soltis(1999)有关多倍体种多元起源(multiple origins)的观点,Soltis & Soltis(1993)曾列举了约 40 种植物,认为它们的多倍体基因组都是通过多次独立的多倍化过程而形成的。基于不同居群独立发生的多倍化过程可能涉及同一种内形态或遗传特性

不同的居群,因而会导致产生一系列在遗传结构上存在差异的多倍体居群,这是多倍体种遗传多样性的一个重要来源。独立起源的不同多倍体线系之间的基因流则将导致在多倍体水平上表现出更加复杂的遗传变异式样,这无疑会对多倍体植物的适应性产生影响。以往认为多倍体种大多是通过偶然发生的多倍化过程而产生的,这种基于少数居群或个体偶然发生的多倍化过程决定了多倍体后代在遗传组成上具有很大的相似性,加之多倍体基因组中重复基因的存在会对通过突变或重组而产生的新的遗传组合的表现产生抑制或缓冲(buffering)作用,因此多倍体种缺乏必要的进化潜力,被看成是进化路线的终点或盲端(Stebbins,1971)。这一观点显然与目前的研究结果不符。对多倍体植物而言,多倍化不是一个偶然的过程,而是一个频发事件,分类学上所承认的很多多倍体种是通过多次独立的多倍化过程而产生的,因此,一个多倍体种所包含的个体可能并不是来自一个共同的祖先,它们由不同的亲本杂交并经多倍化而形成。所以,严格地讲多倍体种不是单系发生的(monophyletic),它们至少可被看成是隐形的(或同形的)种系发生种(cryptic phylogenetic species)(Soltis & Soltis, 1999)。

2 植物多倍体基因组的进化

在多倍体基因组中,存在大量的重复基因和来自不同二倍体祖先的重复基因组,在一个共同的多倍体核中,这些重复的基因或基因组将如何发展、如何进化? 这是目前植物多倍体基因组研究的热点。

2.1 重复基因的进化

从功能上看,多倍体基因组中的重复基因可能有三种不同的命运(Wendel, 2000):(1)保持原有的功能(retention of original function); (2) 基因沉默(gene silencing); (3) 分化并执行新的功能(functional diversification)。

保持原有功能 在多倍体基因组中,多数重复基因能在相对较长的时间内保持与在二倍体基因组中相同或相似的功能,并正常表达,尽管在表达式样上有时会有一些细微的差异。Cooke 等(1997)认为,这种增量表达在某些情况下或在生长发育的某个阶段对增强多倍体个体的适应性可能是有利的,但问题是为什么有些重复基因在多倍化后会很快因发生假基因化(pseudogenization)而沉默或者分化并执行新的功能,而有些重复基因则能在相对较长的时间内一直保持其原始功能? 答案主要来自两方面,一是当植物体中需要大量特别的 RNA 或蛋白质产物时,增量合成往往十分普遍(Larhammer & Risinger, 1994),在这种情况下,选择作用将促使不同的拷贝都保持其原始功能; 另一方面,当一个基因拷贝的突变会与正常拷贝的产物发生负相互作用时,也将促使所有拷贝都保持原有的功能。Gottlieb & Ford(1997)在讨论春再来属 *Clarkia* 植物 *Pgi* 重复位点的保持时就明确指出,两个位点中任一位点、任一拷贝的突变都是选择上不利的,因为这两个位点分别编码一个单体用以形成一个基因间的杂二聚体(intergenic heterodimers),基因突变的产物将影响不同组分间的配合和相互作用,并导致蛋白质完全失活。因此,Gottlieb & Ford(1997)认为,对某些位点而言,不同重复基因都保持其原始功能有利于在转录或蛋白质水平上达到一种最佳状态,任何一个拷贝的突变都将产生不利的影响。目前还有证据表明(Gibson & Spring, 1998; Wagner,1998; Hughes,1994),在多倍体基因组中,不仅对这种编码多蛋白复合体

(multi-protein complex)的基因的突变有限制作用，对一些多效基因或编码多功能蛋白的基因也存在类似的限制作用。由此可见，多倍体基因组中多数重复基因并不是孤立存在的，而是与其他基因密切相关的，Pickett & Meeks-Wagner(1995)认为，在某些情况下，一个重复拷贝的突变犹如在基因组中形成一个“分子毒药”(molecular poison)，将影响整个“基因网”(gene networking)的功能，因而在选择上是不利的。

基因沉默 基因沉默是指基因组中的基因由于受遗传或外遗传因素的影响表达降低或完全不表达的现象。Galili & Feldman(1984)曾从普通小麦(AABBDD)中分离得到一个四倍体株系(AABB)，通过比较不同倍性植株胚乳中所包含的蛋白种类，发现在四倍体植株中缺少了六倍体个体所具有的一些麦醇溶蛋白和麦谷蛋白，推测这些蛋白是由位于D基因组上的基因所调控的；但与此同时，在四倍体植株的表达谱中也还发现了一些谱带是六倍体植株所不具有的，通过实验的方法将该四倍体与含D基因组的二倍体杂交合成一个异源六倍体，在这个新的六倍体植株中，那些四倍体植株所特有的带又变得很弱或完全消失了。这一结果说明D基因组对A或B(或A和B)基因组上某些基因的表达具有抑制作用，D基因组的存在会使这些基因的表达水平降低或完全不表达，表现基因沉默的现象。这种现象不仅发生在小麦基因组中，很多植物(Haufler, 1987; Soltis & Soltis, 1989)从染色体数目看，具有明显的多倍体的特点，但在表达水平上却表现典型的“遗传二倍性”(genetic diploidy)，无疑与基因沉默也有密切的关系。

在多倍体基因组中能导致基因沉默的因素很多，经常发生的遗传突变就有可能使一些重复的功能基因失去表达活性，而成为假基因(pseudogene)，这些基因往往在结构上含有多重缺陷，诸如阅读框架移动、成熟终止前终止、拼接位点或调控位点的删除等。由突变所引起的基因沉默通常是在长期进化过程中逐渐发生的，但目前发现在多倍体基因组中表现出来的基因沉默现象绝大多数是伴随着多倍化的过程而迅速发生的，除非有极高的突变率，否则难以解释这种随多倍化过程而迅速发生的遗传二倍化现象。因此，目前普遍认为多倍体基因组中所表现的基因沉默现象主要不是源自遗传突变，而是源自一些外遗传因素的作用。Comai(2000)曾严格地将由外遗传因素引发无效等位基因(null allele)的过程称为基因沉默，认为这主要是多倍体基因组中基因表达调控式样改变的结果，不涉及DNA序列的变化；而将由于突变导致基因失去表达活性的现象称为基因失活(gene inactivation)，认为这是假基因化的过程。

有关外遗传因素引发基因沉默的分子机制，目前研究最多的是同源依赖性沉默(homology-dependent gene silencing)，即某一基因当有与之同源的DNA序列存在时，该基因的表达下降或完全不表达。由同源序列的相互作用而导致的基因沉默有各种不同的表现，有时在同一植物体内可以观察到沉默的各种变异类型，但其实质都是稳定态mRNA的下降。沉默一旦发生就表现一定的稳定性，有时能通过减数分裂进行传递，但沉默并不是一种永久性的遗传改变，经Southern分析证明沉默基因依然存在，且没有发生明显的重排或删除，沉默基因可以在其他发育环境中重新激活。从分子机制上看，沉默可以发生在转录和转录后两个层次，通常启动子同源引发转录水平的基因沉默，而转录后沉默多是由于编码序列或影响转录终止序列之间的相互作用。越来越多的证据表明无论是转录失活还是转录后沉默都与DNA甲基化有关(Holliday *et al.*, 1998a; Matzke & Matzke, 1998a)。同源

依赖性基因沉默代表着对外来基因的一种排斥,即植物本身能够利用同源或互补核苷酸序列的相互作用去改变基因表达方式,在核内 DNA 水平或细胞质水平控制 mRNA 的过量表达,以阻止入侵 DNA 的渗入,因而这是基因组水平或细胞质水平防卫反应的一种表现(Matzke & Matzke, 1998b)。在多倍化过程中,两个具有不同程度差异的基因组被组合到同一个核中,无异于向一个核中引入大量外源 DNA,因而在某些位点上势必造成同源序列之间的相互作用,由此而引发基因沉默的现象。值得指出的是,多倍化过程中所表现的外遗传性基因沉默并非总是基于同源序列的相互作用。Scheid 等(1996)在对不同倍性拟南芥属 *Arabidopsis* 植物进行比较研究时就发现,染色体数目的增加能够改变某些基因的表达式样,并引发外遗传性基因沉默,而在这些沉默位点上并不存在同源的 DNA 序列;Guo 等(1996)也发现染色体倍性水平的改变既能提高玉米基因组中某些基因的表达水平,同时也能抑制其他一些基因的表达,从而表明染色体倍性(染色体数目)改变本身就能对基因的表达调控产生影响,但目前对这种外遗传性调控的机制还缺乏深入的了解。

显性效应代表了另外一种外遗传性修饰方式,在多倍体植物中,"核仁显性"(nucleolar dominance)表现得尤为明显(Reeder,1985)。Chen & Pikaard(1997)曾报道了在芸苔属 *Brassica* 异源多倍体植物的营养器官中通常只有一个亲本的 rDNA 基因具有活性,另一个亲本的 rDNA 基因被抑制;但在花器官中,被抑制的 rDNA 基因能正常表达。可见这是不同发育阶段特殊的调控机制而引发的外遗传性基因沉默。Chen 等(1998)的研究成果还显示,在自然发生的异源四倍体 *Arabidopsis suecica* 中,其亲本之一的 *A. thaliana* 的 rDNA 基因处于沉默状态,只有另一个亲本 *Cardaminopsis arenosa* 的 rDNA 基因正常表达;而在人工合成的杂种四倍体中,有些 F_1 个体双亲的 rDNA 基因表现共显性,另一些个体只有 *C. arenosa* 的 rDNA 基因正常表达;在 F_2 个体中,*A. thaliana* 的 rDNA 基因完全沉默,只有 *C. arenosa* 的 rDNA 基因正常表达;但当多倍体基因组中不同基因组成分的比例发生改变,即从 A:C = 1:1(AACC)变到 A:C = 3:1(AAAC)时,这种显性关系可以发生逆转。很显然,*A. suecica* 所表现的"核仁显性"现象是基于了不同基因组成分之间的相互作用,这种现象是很难用目前的遗传学理论加以解释的。

在研究多倍体植物基因沉默现象过程中,转座因子的作用也是不可忽视的。在六倍体小麦基因组中,就是由于一个长约 8 kb 的反转录因子插入到控制麦谷蛋白合成的 *Glu-1* 基因的编码区域,导致其不能正常表达(Harberd *et al.*,1987);同样的,*Tnt*1 反转录因子的插入使烟草 *Nicotiana tabacum* 硝酸还原酶基因失去正常功能(Grandbastien *et al.*,1989)。转座因子不仅可以通过插入突变(insertional mutagenesis)使基因失活,转座还能通过干扰宿主基因与其调控元件之间的关系或改变 DNA 的结构而影响基因的表达,结果导致外遗传性基因沉默,目前在豌豆 *Pisum rbcS* 基因(White *et al.*,1994)、玉米 *R-s* 基因(May & Dellaporta, 1998)和 *Antirrhinum Chs* 基因(Lister *et al.*, 1993)中都已观察到这种现象。McClintock(1984)曾指出,转座因子的差异是决定基因组不相容性(genomic incompatibility)的一个重要因素,也是导致产生基因组"冲击"(genomic shock)的一个重要原因;在植物和真菌基因组中,常常通过 DNA 甲基化全方位调节转座子的移动,并在多数情况下使之处于抑制状态,但当基因组遭受"冲击"时,这些转座因子就可能从抑制状态中释放出来,启动它们移动的过程。Wendel(2000)认为,多倍化就代表了基因组"冲击"的一种形式,其结果

是削弱了基因组抑制系统的作用，增强了转座因子的活性，而转座因子的活动不仅会改变基因组中某些基因的结构和表达式样，同时有可能改变基因组中 DNA 甲基化的水平和外遗传修饰式样，改变多倍体基因组中不同基因组成分间的相互关系，从而对整个基因组中基因的表达以及多倍体的表型产生影响。

除了突变和外遗传修饰以外，也还有其他一些因素能导致二倍体祖先的基因在多倍体基因组中不能正常表达，比如：DNA 排除作用。Feldman 等(1997)和 Liu 等(1998a, 1998b)以小麦特异染色体序列为探针，研究不同倍性小麦基因组的特点，结果发现由倍性差异所引发的序列排除现象在不同倍性小麦中都普遍存在，并发现某一特异序列是否会从一个基因组成分中被排除，与该序列是否在其他基因组成分中出现有关，从而表明由倍性变异所引导的 DNA 排除现象并不是一个随机的过程，而是有方向性的，究其生物学意义，Feldman 等(1997)认为通过 DNA 排除过程，可以把某些部分同源染色体(homoeologous)所共有的序列转化成某些染色体所特有的序列，增加部分同源染色体之间的差异水平，减少它们在减数分裂过程中配对的机会，保证严格的同源染色体(homologous)之间的配对，从而为多倍化以后在多倍体基因组中尽快恢复二倍化的染色体配对式样奠定基础。

分化并执行新的功能　以往一直认为，在多倍体基因组中存在大量重复基因，这些重复基因中有一部分拷贝保留了它们原有的功能，并正常表达，另一些冗余拷贝则因选择压力的松弛而逐渐分化，各自积累不同的变异，进而发展成为执行不同功能的新的基因(Stephens, 1951)。然而目前有证据表明在多倍体生物中，纯化选择并非仅仅作用于重复基因中的少数几个拷贝，而是作用于所有的拷贝(Hughes & Hughes, 1993)，并且在有些情况下(Ohta, 1994; Ohta, 1991; Li, 1985)，重复基因的功能分化明显地与蛋白质序列中氨基酸加速的替代过程相伴随，这种加速的、过量的替代现象只能是正选择促进的结果。由此说明在多倍体基因组中重复基因的功能分化并不完全象我们以前所认为的是由于选择压力的松弛而发生随机突变的结果，多倍体基因组中新的功能基因或新的位点的出现很可能是由选择压力所驱动的。当然，在多倍体基因组中，要准确判断两个不同功能基因之间的演化关系并不是一件简单的事情，这一方面是因为重复基因的功能分化通常并不是随着多倍化的过程而迅速发生的，常常需要一定的演化时间；另一方面，植物基因组中的很多基因都隶属于一些特殊的基因家族(gene family)，这些基因家族的不同成员在功能上也可以显现不同程度的分化。因此，要证明多倍体基因组中两个具不同功能的基因是否是由多倍化过程中形成的不同的拷贝分化而成，首先必须确认：1)这两个基因确实是部分同源的(homoeologous)，而不是并系同源的(paralogous)，也就是说这两个基因确实属于由多倍化造成的重复基因；2)这两个基因在功能上确实存在差异；3)功能分化是发生在多倍化以后，而不是在二倍体水平。在新近形成的多倍体中，要确定不同重复基因之间直系同源(orthologous)或部分同源的关系还是可行的，但由于该多倍体基因组形成和进化的时间不长，不同重复拷贝可能还没有明显分化，因此要分析多倍化与重复基因功能分化的关系有一定困难；在进化历史较长的多倍体中，不同重复拷贝可能在功能上已产生了明显分化，在 DNA 序列和基因结构上也表现一定的差异，但与此同时，这些重复基因之间的同源性以及与二倍体祖先的关系也会变得相对模糊，因而就难以确定它们是否是多倍化过程中形成的重复基因。正是由于这些因素限制了对多倍体基因组中重复基因功能分化过程的

深入了解,使得目前还很难列举一个典型的例证能够说明某一新的功能基因的出现就是多倍化后不同重复基因功能分化的结果,目前广泛进行的基因组作图和功能分析也许能为这一领域的研究提供有用的证据。

需要注意的是,多倍体基因组中重复基因的功能分化不仅仅发生在结构基因中,也发生在调控基因中。在玉米基因组中,有一对调控花青素合成的基因 R 和 B,它们都编码调控花青素合成的转录激活子(transcriptional activators),具有相同的生理功能,但在调控和表达方式上具有明显的组织特异性。Gaut & Doebley(1997)对玉米基因组中 14 个基因对的序列进行比较,发现 R 与 B 之间的替换率在所比较的基因对中是最高的。这一结果说明在玉米基因组的长期进化过程中,R 和 B 这一对重复基因在基因结构和功能上都发生了分化,但分化的结果不是体现在它们所编码的蛋白质功能上,而是体现在其表达和调控式样上,这种表达和调控式样的转变并不是由 R 和 B 基因本身所决定的,而是涉及到其他调控 R 和 B 表达的调控因子,涉及到其他顺式或反式作用因子的改变,涉及到整个基因组的表达调控系统。因此,Wendel(2000)认为,由多倍化所导致的重复基因进化分异的影响最主要的不是体现在蛋白质结构和功能上,而是体现在基因表达调控式样上,多倍体基因组的进化、多倍体基因组特点的形成在很大程度上是与调控基因的"革命"联系在一起的,它们从根本上控制着多倍体生物的发育方式和适应性发展。

在多倍体基因组中,重复基因的进化动态不仅仅表现在功能上,还表现在不同拷贝之间相互作用的过程中。从分子进化的角度看,多倍体基因组中重复基因的进化并不是完全独立的,在不同基因拷贝之间存在复杂的相互作用,有关 rDNA 基因的研究提供了很多这方面的证据。植物 rDNA 基因在基因组中是以串联重复的形式存在的,串联序列中的重复单位(18s - 5.8s - 28s)通过反复的不等互换(unequal crossover)或基因转换(gene conversion)保持一致进化(concerted evolution)的状态。当 rDNA 重复序列位于不止一条染色体上时,在不同染色体的同源序列间就可能发生相互重组(reciprocal recombination)或基因转换,结果导致位于不同染色体上的 rDNA 序列的同质化,这种现象不仅发生在二倍体基因组的不同染色体之间,也发生在多倍体基因组中不同基因组组分的染色体之间。棉花 *Gossypium gossypioides* 的两个二倍体祖先(A 和 D)在 rDNA 基因的 ITS 序列上具有明显的差异,因此可用于在多倍体基因组中区分来自不同基因组组分的 rDNA 重复单位。对四倍体棉花的基因组(AADD)进行分析,发现所有 rDNA 重复单位的序列都非常一致,不论其位于哪一个基因组的哪一条染色体上。通过与二倍体祖先的 ITS 序列进行比较,发现所有多倍体都只带有一种类型的祖先 rDNA,要么是 A 基因组的,要么是 D 基因组的(Wendel *et al*.,1995)。这一现象无疑表明多倍化后在不同基因组组分的 rDNA 位点间发生了一致进化的过程,在此过程中,一种亲本类型的 rDNA 重复单位得以逐步扩展,而另一种亲本类型的 rDNA 被逐步排除,最终导致基因组中所有 rDNA 序列的同质化。这是由多倍化导致的重复基因相互作用的典型例证,这种现象不仅发生在棉属植物中,目前在 *Microseris* (Roelofs *et al*., 1997), *Saxifraga* (Brochmann *et al*., 1996)和 *Paeonia* (Sang *et al*., 1995; Zhang & Sang, 1999)等属植物中也发现类似的现象。由于同质化的结果是把所有同源 DNA 都转化成了同一种类型,其他类型祖先 DNA 的功能就不可能在多倍体基因组中正常表现,因而,这种基于重复序列的相互作用而发生的同质化过程也是导致多倍体基因组中

基因沉默现象的一个重要因素，所不同的是在这种情况下，有功能的、正常表达的基因的拷贝数并没有因有些类型拷贝的沉默而减少，而是一种类型的拷贝取代了所有其他类型的拷贝正常表达。

值得注意的是，重复基因的相互作用有可能导致 DNA 序列的同质化，但与此同时也可能导致产生一些意想不到的、二倍体祖先所不具有的新的遗传特点，在 *Paeonia* 和 *Microseris* 属植物的多倍体基因组中就都曾发现有新的不同于二倍体祖先类型的 rDNA 出现，在烟草异源四倍体基因组(SSTT)中也曾发现有两个重组的 cDNA 克隆，它们兼有两个亲本基因组的序列特点，因而很可能是由来自不同基因组的重复序列通过基因转化过程而产生的，这些新的等位有可能具有不同于祖先类型的功能特点，因而对多倍体适应性发展具有潜在的意义。

2.2　重复基因组的进化

在多倍体进化过程中，处于同一多倍体核中的不同基因组组分并不是彼此独立的，它们常常通过不同的途径在基因组组内或不同基因组之间进行广泛的重组，以调整不同基因组之间以及核基因组与细胞质之间的相互关系，提高相容性水平，为多倍体基因组的稳定和发展奠定基础。运用分子和细胞遗传学方法对不同类型多倍体及其二倍体祖先基因组进行比较研究，发现在多倍体基因组中，基因组重组主要通过染色体重排(chromosomal rearrangement)、基因组入侵(intergenomic invasion)以及核-质之间的相互作用(nuclear-cytoplasmic interaction)而实现。

染色体重排与"染色体二倍化"(chromosomal diploidization)　遗传作图和基因组原位杂交(genomic *in situ* hybridization GISH)的结果显示多倍化后在多倍体基因组中常常发生广泛而迅速的染色体重排过程。Reinisch 等(1994)运用 RFLP 作图的方法对四倍体棉花的基因组进行研究，发现依据重复位点的类型可以在棉花基因组中识别出 11 对部分同源的染色体，对这些部分同源染色体上连锁群(linkage group)的分布式样进行比较发现，只有两对部分同源染色体在基因排列顺序上表现明显的共线性(collinearity)，另有 4 对至少发生过一次倒位，有两对发生过两次倒位，有一对发生过一次明显的易位；对棉花二倍体祖先的基因组(A 和 D)进行比较，可以看出它们在基因排列顺序上是非常相似的，但在四倍体基因组中它们彼此之间就表现明显的差异，由此可以证实正是多倍化促进了这种进化改变的发生。

目前有资料显示，多倍体基因组中的染色体重排过程不仅仅发生在同一基因组的不同染色体之间，同时也发生在不同基因组组分之间。比如：Kenton 等(1993)运用特异染色体荧光标记进行原位杂交，在四倍体烟草基因组中至少发现 9 个基因组之间的相互易位，并证实了烟草基因组中绝大部分染色体都同时镶嵌了两个亲本基因组的成分；Jellen 等(1994)通过 GISH 分析，在四倍体燕麦(*Avena*)基因组中发现了 5 个基因组间的相互易位，在六倍体燕麦基因组中，相互易位的数量则多达 18 个(Chen & Armstrong, 1994)。即使在不同基因组组分同源性相差很大的多倍体基因组中也不乏存在很多基因组之间的相互易位，Zwierzykowski 等(1998)曾用 *Lilium multiflorum* 和 *Festuca pratensis* 为材料，合成了一个异源四倍体($2n = 4x = 28$)，然后运用染色体原位杂交的方法对其基因组进行分析，发现在每个细胞中，至少有 20 条染色体曾参与了基因组之间的相互易位，每一个细胞中基因组之

间相互易位的数量为22~38个。由此可见,染色体重排是存在于多倍体基因组进化过程中的非常普遍的现象。

染色体重排不仅导致在不同基因组组分之间发生广泛的重组,而且能使基因组结构发生明显的改变。在对玉米基因组进行遗传作图时发现,在玉米基因组中存在两套重复的基因连锁群,这就意味着玉米基因组中包含有两个不同的基因组组分,根据这一点可以确认玉米是四倍体(2n=4x=20),而不是二倍体(Moore *et al*., 1995; Helentjaris *et al*., 1998)。然而,无论是依据连锁群的分布式样还是染色体的形态结构,目前在玉米基因组中都无法明确区分出这两个不同的基因组,在玉米基因组中不存在以5为基数的同源染色体对,造成这种现象的主要原因就是多倍化后的染色体重排过程,不同基因组染色体之间广泛的相互易位使玉米基因组在结构上不再具有四倍体的特点,而成为染色体二倍化的多倍体(chromosomally diploidized polyploid)。同样的,遗传作图的结果显示芸苔属 *Brassica* 很多以前被认为是二倍体的种也都具有多倍体的性质,并起源于一个共同的多倍体祖先,因为在它们的基因组中都含有3套完整的、经过重排的祖先基因组,这些"二倍体"种(*B. nigra* n=8; *B. oleracea* n=9; *B. rapa* n=10)在染色体基数和基因排列顺序上的差异反映了它们在多倍化后经历了不同的染色体重排和染色体融合(chromosome fusion)过程,Lagercrantz & Lydiate(1996)认为在这些植物的核型进化过程中至少发生过24次染色体重排事件,否则难以解释目前在这些植物基因组中所观察到的特殊的基因排列式样。

在多倍体基因组中,由不同基因组组分之间的相互易位和重排而导致的染色体二倍化现象还有可能影响对多倍体倍性水平的估计。比如:棉花 *Gossypium gossypioides* 通常被认为是异源四倍体(2n=4x=52),然而通过遗传作图发现棉花的"二倍体"祖先本身就是基因组结构已显著二倍化了的古四倍体,因此由四倍体杂交再经多倍化形成的棉花应是八倍体,而不是四倍体,从这一点看,棉花的多倍性水平被低估了。棉花基因组实际代表了一种"嵌套重复"(nested duplications)的式样,也就是在二倍化了的多倍体基因组上发生了新一轮多倍化的过程(Wendel, 2000)。

染色体重排是多倍体基因组进化的一条重要途径,尽管在有些植物(如:大豆)中,重排主要发生在同一基因组内的不同染色体之间,但目前有大量资料显示几乎在所有异源多倍体基因组中都存在不同基因组组分之间的相互易位。Leitch & Bennett(1997)认为这对多倍体进化具有特殊的意义,因为它代表了一种全新的进行遗传重组的机制,这种机制只可能发生在通过多倍化形成的包含不同基因组组分的多倍体核中。Jiang & Gill(1994)曾依据对小麦基因组的研究区分出两种不同类型的基因组之间的相互易位,一种是随机易位(random translocation),另一种是种特异性易位(species-specific translocation),前者发生在同一多倍体种中不同居群个体的不同染色体上,后者发生在同一多倍体种中所有居群个体的特定染色体上。但无论哪一种易位都会对多倍体基因组中新的遗传体系的建立以及染色体二倍化过程产生影响,从而有利于多倍体的稳定和进化。

基因组入侵与"基因组殖民化"(genome colonization) 不同基因组之间的相互易位为多倍体基因组中部分同源染色体之间的重组提供了一条途径,其结果导致双方在基因组组成和结构上都发生不同程度的改变。除此以外,在多倍体基因组中还存在另一种形式的重组过程,即:基因组入侵。从现有资料看,基因组入侵主要发生在一些重复序列的重

组过程中。Zhao 等(1998)从四倍体棉花基因组中分离得到 83 个不同的 DNA 重复序列，通过 Southern 杂交试验证明，约 75%的重复序列为 A 基因组所特有，只有 4 个重复序列是 D 基因组所特有的。以这些重复序列为探针对四倍体棉花基因组进行原位杂交，结果发现在二倍体水平仅限于 A 基因组的重复序列不仅在 A 基因组染色体上有很强的杂交信号，在 D 基因组染色体上也同样显示很强的杂交信号，这就意味着多倍化以后 A 基因组特异的重复序列已侵入到 D 基因组中。Hanson 等(1998)同样以棉花为材料，选用 6 个在四倍体基因组中在 A 和 D 基因组染色体上都表现较强杂交信号的重复序列为探针，分别与 A 和 D 基因组供体的二倍体祖先进行杂交，结果发现 6 个重复序列在 A 基因组供体的二倍体祖先基因组中都表现出预期的杂交式样，但没有一个探针能在 D 基因组供体的二倍体祖先基因组中显示明显的杂交信号，这进一步证实了在四倍体基因组中 A 基因组特异重复序列向 D 基因组的水平转移，或者是 D 基因组中的部分同源序列已被 A 基因组的重复因子所取代或转化，Wendel 称这种现象为“基因组殖民化”(Wendel, 2000)。从分子机制上看，基因组入侵可能主要归因于两个因素，一是由于基因转换而导致的不同基因组重复序列的一致进化，另一个就是转座因子的作用。基因组入侵和基因组殖民化无疑会对多倍体基因组的组成和结构产生影响，但由于目前有关基因组入侵的资料都来自对不同重复序列的研究，因而其潜在的生物学意义尚不明了。

核-质相互作用 植物生长发育主要受核基因的调控，但与此同时，与叶绿体基因组以及线粒体基因组也有一定联系，长期协同进化的结果使核 DNA 与细胞质 DNA 在性状表达调控过程中处于一种和谐、平衡的状态。但在多倍化过程中，核基因组被加倍了，细胞质 DNA 的量并没有增加，因此核-质之间 DNA 量的比例发生了改变，这种状况有可能引起调控作用的紊乱或失调；尤其在异源多倍化过程中，两个本来相互隔离的、具有不同程度差异的基因组被组合到同一个核中，并处在由单一亲本所提供的细胞质环境中，因此在控制性状表达过程中，不仅两个基因组之间要相互调整、相互协作，在核基因组与细胞质之间也必须通过一定的形式相互作用，调整核-质比例，在新的基础上重建核-质之间和谐、平衡的相互关系，提高相容性水平，这是多倍体稳定和进化的一个重要基础(Wendel, 2000)。尽管目前对细胞核与细胞质之间相互作用的机制还不十分了解，但在研究多倍体基因组进化过程中所发现的一些现象确实显示与细胞质有一定联系。

Song 等(1995)以芸苔属的 *Brassica rapa* (A 基因组)，*B. nigra* (B 基因组)和 *B. oleracea* (C 基因组)为材料，按不同组合(A×B, B×A, A×C, C×A)合成了一系列异源四倍体，然后通过 RFLP 分析，对不同组合 F_2 和 F_5 个体的基因组特点进行比较，结果发现在 AB 组合中 F_2 与 F_5 个体的限制性内切酶片段差异性水平为 9.6%，BA 组合为 8.2%，AC 组合为 4.1%，CA 组合为 3.7%；此外，通过将四倍体基因组中不同基因组组分与各自的二倍体祖先基因组进行比较，发现在 AB 和 BA 组合中，作为父本供体的基因组比作为母本供体的基因组显示更大的变异，但在 AC 和 CA 组合中不存在类似的现象。这一结果说明：1)亲本基因组之间遗传差异程度越大，多倍化后在多倍体基因组中经历的进化改变也越多，因为从系统演化关系看，A 与 C 的关系比 A 与 B 的关系更近；2)在 AB 和 BA 组合中，父本基因组比母本基因组变异程度更大，显然是受细胞质的影响，因为对父本基因组来说，它面临一个全新的细胞质环境，因而需要作更大程度的调整才能保证与细胞质之间

的相容性。在AC和CA组合中,两个基因组亲缘关系较近,本来就具有较高的核-质相容性水平,因而对父本基因组而言不需要作太多额外的调整。

在讨论染色体重排时曾提到Jiang & Gill(1994)将发生在不同基因组之间的易位分为两种类型,其中一种是种特异性易位,Gill(1991)认为这种特异性易位的发生也是基于核-质之间的相互作用。根据这个假设,一个新的多倍体在形成过程中必须通过控制多倍体育性的“瓶颈”,这个控制因素就来自父本基因组与母本基因组之间、以及父本基因组与由母本所提供的细胞质基因组之间的相互作用,如果它们本来的亲缘关系不是很近,那么为了重建核-质之间的相容性和恢复育性,就必须在染色体结构上发生一些特异性的重排,Jiang & Gill(1994)认为他们在四倍体小麦基因组中发现的不同基因组组分之间的易位就属于这种类型,类似的现象也发生在烟草基因组中。

基因组重组是多倍体进化的一个重要方面,也是多倍体基因组进化动态的具体体现。在多倍化后迅速发生的重组过程使多倍体基因组在基因组结构和遗传特性等方面不是表现为祖先基因组特点的简单相加,而是表现许多非孟德尔式的遗传变异。基因组重组的结果一方面在很大程度上改善了不同基因组组分之间以及核基因组与细胞质基因组之间的相互关系,提高了相容性水平;另一方面也为多倍体植物的适应进化以及不同多倍体线系的分化提供了一个遗传变异的源泉。

3 研究展望

多倍体核是一个动态的进化系统,多倍体核中重复基因和重复基因组之间的相互作用能使基因组组成、结构以及基因表达水平和式样发生明显的改变。从分子和细胞遗传学角度对不同类型多倍体形成和进化过程的研究已在很大程度上改变了我们以往对多倍体基因组的认识,尤其是有关重复基因以及重复基因组之间的相互作用。但到目前为止,围绕多倍体基因组形成和进化的机制、功能及其生物学意义,有很多问题还是模糊不清的,例如:对重复发生的多倍体而言,在不同居群中发现的不同的基因组重组式样是否是独立发生的?是否与多元发生有联系?多元发生的多倍体线系之间是否存在基因流?多元发生对多倍体的形态、生理、遗传特点乃至种群分化有什么影响?在基因组结构和遗传特性方面,目前已经发现外遗传性基因沉默是影响多倍体基因组基因表达水平和式样的重要因素,那么到底哪些因素能引发外遗传性基因沉默?它们作用的机制是什么?同样的,我们已经看到在多倍体进化过程中,核-质之间存在相互作用,但我们还不了解这种作用的基础是什么,不了解在多倍化过程中来自两个不同基因组的调控因子是如何协调和配合的,不了解多倍体基因组中影响和控制部分同源染色体配对(或不配对)的机制,也不了解同源多倍体和异源多倍体在基因组重组式样、范围和程度上是否存在差异。

很久以来,多倍体一直与新的形态和新的适应特征的产生联系在一起,然而我们并不清楚基因组重组与多倍体所获得的新的进化机遇之间到底存在什么关系,我们需要了解多倍体适应性发展的遗传基础,需要了解新的重组类型在居群中扩散的途径,因此我们有必要从分子、细胞乃至种群水平对多倍体形成和进化的过程进行更深入的研究。

参 考 文 献

Ballington J R, Galletta G J, 1976. Potential fertility levels in four diploid *Vaccinium* species. J Am Soc Hortic Sci,

101:507 ~ 509

Belling J, 1925. The origin of chromosomal mutations in *Uvularia*. J Genet, 15: 245 ~ 266

Brochmann C, Nilsson T, Gabrielsen T M, 1996. A classic example of postglacial allopolyploid speciation re-examined using RAPD markers and nucleotide sequences: *Saxifraga osloensis* (Saxifragaceae). Symb Bot Upsala, 31: 75 ~ 89

Chen Q, Armstrong K C, 1994. Genomic *in situ* hybridization in *Avena sativa*. Genome, 37: 607 ~ 612

Chen Z J, Comai L, Pikaard C S, 1998. Gene dosage and stochastic effects determine the severity and direction of uniparental ribosomal RNA gene silencing (nucleolar dominance) in *Arabidopsis* allopolyploids. Proc Natl Acad Sci USA, 95: 14891 ~ 14896

Chen Z J, Pikaard C S, 1997. Transcriptional analysis of nucleolar dominance in polyploid plants: biased expression/silencing of progenitor rRNA genes is developmentally regulated in *Brassica*. Proc Natl Acad Sci USA, 94: 3442 ~ 3447

Coleman L, 1950. Nuclear conditions in normal stem tissue of *Vicia faba*. Can J Res, 28:382 ~ 391

Comai L, 2000. Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants. Plant Mol Biol, 43: 387 ~ 399

Cooke J, Nowak M A, Boerlijst M, Maynard-Smith J, 1997. Evolutionary origins and maintenance of redundant gene expression during metazoan development. Trends Genet, 13: 360 ~ 364

De Haan A, Maceira N O, Lumaret R, Delay J, 1992. Production of 2n gametes in diploid subspecies of *Dactylis glomerata* L. 2. Occurrence and frequency of 2n eggs. Ann Bot, 69: 345 ~ 350

Dorsey E, 1936. Induced polyploidy in wheat and rye. Chromosome doubling in *Triticum*, *Secale* and *Triticum-Secale* hybrids produced by temperature changes. J Hered, 27: 155 ~ 160

Feldman M, Liu B, Segal G, Abbo S, Levy A A, Vega J M, 1997. Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploid wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes. Genetics, 147: 1318 ~ 1387

Galili G, Feldman M, 1984. Intergenomic suppression of endosperm protein genes in common wheat. Can J Genet Cytol, 26: 651 ~ 656

Gaut B S, Doebley J F, 1997. DNA sequence evidence for the segmental allotetraploid origin of maize. Proc Natl Acad Sci USA, 94: 6808 ~ 6814

Gibson T J, Spring J, 1998. Genetic redundancy in vertebrates: polyploidy and persistence of genes encoding multidomain proteins. Trends Genet, 14: 46 ~ 49

Gill B S, 1991. Nucleocytoplasmic interaction (NCT) hypothesis of genome evolution and speciation in polyploid plants. In: Sasakuma T, Kinoshita T eds. Proceedings of the Kihara Memorial International Symposium on Cytoplasmic Engineering in Wheat. Yokohama, 48 ~ 53

Gottlieb L D, Ford V S, 1997. A recently silenced duplicate *PgiC* locus in *Clarkia*. Mol Biol Evol, 14: 125 ~ 132

Grandbastien M A, Spielmann A, Caboche M, 1989. *Tnt1*, a mobile retroviral-like transposable element of tobacco isolated by plant cell genetics. Nature, 337: 376 ~ 380

Grant V, 1952. Cytogenetics of the hybrid *Gilia millefoliata* × *achilleaefolia*. Ⅰ. Variations in meiosis and polyploidy rate as affected by nutritional and genetic conditions. Chromosoma, 5: 372 ~ 390

Guo M, Davis D, Birchler J A, 1996. Dosage effects on gene expression in a maize ploidy series. Genetics, 142: 1349 ~ 1355

Hagerup O, 1947. The spontaneous formation of haploid, polyploid and aneuploid embryos in some orchids. Kongel Danshe Videnskab Selskab Biol Meddelelser, 20:1 ~ 22

Hanson R E, Zhao X P, Islam-Faridi M N, Paterson A H, Zwick M S, Crane C F, McKnight T D, Stelly D M, Price H J, 1998. Evolution of interspersed repetitive elements in *Gossypium* (Malvaceae). Am J Bot, 85: 1364 ~ 13687

Harberd N P, Flavell R B, Thompson R D, 1987. Identification of a transposon-like insertion in a *Glu*-1 allele of wheat. Mol Gen Genet, 209: 326 ~ 332

Haufler C H, 1987. Electrophoresis is modifying our concepts of evolution in homosporous pteridophytes. Am J Bot, 74: 953 ~ 966

Helentjaris T, Weber D, Wright S, 1998. Identification of the genomic locations of duplicate nucleotide sequences in

maize by analysis of restriction fragment length polymorphisms. Genetics, 118: 353 ~ 363

Holliday R, Ho T, 1998. Evidence for gene silencing by endogenous DNA methylation. Proc Natl Acad Sci USA, 95: 8727 ~ 8732

Hong D-Y(洪德元), 1990. Cytotaxonomy of Plants. Beijing: Science Press

Hughes A L, 1994. The evolution of functionally novel proteins after gene duplication. Proc R Soc Lond B, 256: 119 ~ 124

Hughes M K, Hughes A L, 1993. Evolution of duplicate genes in a tetraploid animal *Xenopus laevis*. Mol Biol Evol, 10:1360 ~ 1369

Jellen E N, Gill B S, Cox T S, 1994. Genomic *in situ* hybridization differentiates between A/D-and C-genome chromatin and detects intergenomic translocations in polyploid oat species (genus *Avena*). Genome, 37: 613 ~ 618

Jiang J, Gill B S, 1994. Different species-specific chromosome translocations in *Triticum timopheevii* and *T. turgidum* support the diphyletic origin of polyploid wheats. Chromosome Res, 2: 59 ~ 64

Karpechenko G D, 1927. The production of polyploid gametes in hybrids. Hereditas, 9: 349 ~ 368

Kenton A, Parokonny A S, Gleba Y Y, Bennett M D, 1993. Characterization of the *Nicotiana tabacum* L. genome by molecular cytogenetics. Mol Gen Genet, 240: 159 ~ 169

Lagercrantz U, Lydiate D J, 1996. Comparative genome mapping in *Brassica*. Genetics, 144: 1903 ~ 1910

Larhammer D, Risinger C, 1994. Why so few pseudogenes in tetraploid species? Trends Genet, 10: 418 ~ 419

Leitch I J, Bennett M D, 1997. Polyploidy in angiosperms. Trends Plant Sci, 2: 470 ~ 476

Li W H, 1985. Accelerated evolution following gene duplication and its implications for the neutralist-selectionist controversy. In: Ohta T, Aoki K eds. Population Genetics and Molecular Evolution. Berlin: Spinger-Verlag. 333 ~ 353

Lister C, Jackson D, Martin C, 1993. Transposon-indued inversion in *Antirrhinum* modifies *nivea* gene expression to give a novel flower color pattern under the control of *Cycloidea radialis*. Plant Cell, 5: 1541 ~ 1553

Liu B, Vega J M, Feldman M, 1998a. Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops*. Ⅱ. Changes in low-copy coding DNA sequence. Genome, 41: 535 ~ 542

Liu B, Vega J M, Segal G, Abbo S Rodova M, Feldman M, 1998b. Rapid genomic changes in newly synthesized amphiploids of *Triticum* and *Aegilops*. Ⅰ. Changes in low-copy non-coding DAN sequences. Genome, 41: 272 ~ 277

Maceira N O, De Haan A A, Lumaret R, Billon M, Delay J, 1992. Production of 2n gametes in diploid subspecies of *Dactylis glomerata* L. 1. Occurrence and frequency of 2n pollen. Ann Bot, 69: 335 ~ 343

Masterson J, 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. Science, 264: 421 ~ 424

Matzke M A, Matzke A J M, 1998a. Gene silencing in plants: relevance for genome evolution and the acquisition of genomic methylation patterns. In: Epigenetics Novartis Foundation Symposium 214. Chichester: Wiley & Sons. 168 ~ 186

Matzke M A, Matzke A J M, 1998b. Epigenetic silencing of plant transgenes as a consequence of diverse cellular defense responses. Cell Mol Life Sci, 54: 94 ~ 103

May B P, Dellaporta S L, 1998. Transposon sequences drive tissue-specific expression of the maize regulatory gene R-s. Plant J, 13: 241 ~ 247

McClintock B, 1984. The significance of responses of the genome to challenge. Science, 226: 792 ~ 801

McHale N A, 1983. Environmental induction of high frequency 2n pollen formation in diploid *Solanum*. Can J Genet Cytol, 25: 609 ~ 615

Mok D W S, Peloquin S J, 1975. Three mechanisms of 2n pollen formation in diploid potatoes. Can J Genet Cytol, 17: 217 ~ 225

Moore G, Devos K M, Wang Z, 1995. Grasses, line up and form a circle. Curr Biol, 5: 737 ~ 739

Newton W C F, Pellew C, 1929. *Primula kewensis* and its derivatives. J Genet, 20:405 ~ 467

Ohta T, 1991. Multigene families and the evolution of complexity. J Mol Evol, 33: 34 ~ 41

Ohta T, 1994. Further examples of evolution by gene duplication revealed through DNA sequence comparisons. Genetics, 138: 1331 ~ 1337

Parrott W A, Smith R R, 1984. Production of 2n pollen in red clover. Crop Sci, 24:469 ~ 472

Pickett F B, Meeks-Wagner D R, 1995. Seeing double: appreciating genetic redundancy. Plant Cell, 7: 1347 ~ 1356

Ramsey J, Schemske D W, 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. Annu Rev Ecol Syst, 29: 467 ~ 501

Randolph L F, 1932. Some effects of high temperature on polyploidy and other variations in maize. Proc Natl Acad Sci USA, 18:222 ~ 229

Reeder R H, 1985. Mechanisms of nucleolar dominance in animals and plants. J Cell Biol, 101: 2013 ~ 2016

Reinisch A J, Dong J, Brubaker C L, Stelly D M, Wendel J F, Paterson A H, 1994. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* × *G. barbadense*: chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. Genetics, 138: 829 ~ 847

Roelofs D, van Velzen J, Kuperus P, Bachmann K, 1997. Molecular evidence for an extinct parent of the tetraploid species *Microseris acuminata* and *M. campestris* (Asteraceae, Lactuceae). Mol Ecol, 6: 641 ~ 649

Sang T, Crawford D J, Stuessy T F, 1995. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution. Proc Natl Acad Sci USA, 92: 6813 ~ 6817

Scheid O M, Jakovleva L, Afsar K, Maluszynska J, Paszkowski J, 1996. A change in ploidy can modify epigenetic silencing. Proc Natl Acad Sci USA, 93: 7114 ~ 7119

Soltis D E, Soltis P S, 1989. Polyploidy, breeding systems and genetic differentiation in homosporous pteridophytes. In: Soltis D E, Soltis P S eds. Isozymes in Plant Biology. Oregan: Dioscorides Press

Soltis D E, Soltis P S, 1993. Molecular data and the dynamic nature of polyploidy. Crit Rev Plant Sci, 12: 243 ~ 273

Soltis D E, Soltis P S, 1999. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. Trends Ecol Evol, 9: 348 ~ 352

Song K, Lu P, Tang K, Osborn T C, 1995. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. Proc Natl Acad Sci USA, 92: 7719 ~ 7723

Stebbins G L, 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. London: Edward Arnold

Stephens S G, 1951. Possible significance of duplication in evolution. Adv Genet, 4: 247 ~ 265

Tavoletti S, Mariani A, Veronesi F, 1991. Phenotypic recurrent selection for 2n pollen and 2n egg production in diploid alfalfa. Euphytica, 57: 97 ~ 102

Thompson J D, Lumaret R, 1992. The evolutionary dynamics of polyploid plants: origins, establishment and persistence. Trends Ecol Evol, 7(9): 303 ~ 306

Vigfusson E, 1970. On polyspermy in the sunflower. Hereditas, 64: 1 ~ 52

Wagner A, 1998. The fate of duplicated genes: loss or new function? Bioessays, 20: 785 ~ 788

Wendel J F, 2000. Genome evolution in polyploids. Plant Mol Biol, 42:225 ~ 249

Wendel J F, Schnabel A, Seelanan T, 1995. Bidirectional interlocus concerted evolution following allopolyploid speciation in cotton (*Gossypium*). Proc Natl Acad Sci USA, 92: 280 ~ 284

Werner J E, Peloquin S J, 1991. Occurrence and mechanisms of 2n egg formation in 2x potato. Genome, 34: 975 ~ 982

White S E, Habera L F, Wessler S R, 1994. Retrotransposons in the flanking regions of normal plant genes: a role for copia-like elements in the evolution of gene structure and expression. Proc Natl Acad Sci USA, 91: 11792 ~ 11796

Zhang D, Sang T, 1999. Physical mapping of ribosomal RNA genes in peonies (*Paeonia*; Paeoniaceae) by fluorescent *in situ* hybridization: implications for phylogeny and concerted evolution. Am J Bot, 86: 735 ~ 740

Zhao X P, Si Y, Hanson R E, Crane C F, Price H J, Stelly D M, Wendel J F, Paterson A H, 1998. Dispersed repetitive DNA has spread to new genomes since polyploid formation in cotton. Genome Res, 8: 479 ~ 492

Zwierzykowski Z, Tayyar R, Brunell M, Lukaszewski A J, 1998. Genome recombination in intergeneric hybrids between tetraploid *Festuca pratensis* and *Lolium multiflorum*. J Hered, 89: 324 ~ 328

（责任编辑 汪桂芳）